

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 714 828

②1 N° d'enregistrement national : **94 00249**

⑤1 Int Cl⁸ : A 61 K 31/425

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 12.01.94.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : 13.07.95 Bulletin 95/28.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : RHÔNE-POULENC RORER (S.A.) —
FR.

⑦2 Inventeur(s) : Delumeau Jean-Christophe, Martinet
Michel, Reibaud Michel et Stutzmann Jean-Marie.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : Rhône-Poulenc Rorer S.A.

⑤4 Application du riluzole dans le traitement des maladies mitochondriales.

⑤7 Application du riluzole ou les sels pharmaceutique-
ment acceptables de ce composé pour le traitement des
maladies mitochondriales.

FR 2 714 828 - A1



APPLICATION DU RILUZOLE DANS LE TRAITEMENT DES MALADIES MITOCHONDRIALES

La présente invention concerne une nouvelle application thérapeutique du riluzole ou les sels pharmaceutiquement acceptables de ce composé.

5 Le riluzole ou amino-2 trifluorométhoxy-6 benzothiazole est utile comme médicament anticonvulsivant, anxiolytique et hypnotique (brevet EP 50551), dans le traitement de la schizophrénie (EP 305276), dans le traitement des troubles du sommeil et de la dépression (EP 305277), dans le traitement des désordres cérébrovasculaires et comme anesthésique
10 (EP 282971).

Il a maintenant été trouvé de manière surprenante que ce composé peut aussi être utilisé dans le traitement des maladies mitochondriales.

Les maladies mitochondriales sont des maladies dégénératives liées à différents mécanismes comme par exemple des anomalies de l'ADN
15 mitochondrial (délétions, mutations ponctuelles, déplétions, duplications), des anomalies de l'ADN cellulaire codant pour des enzymes mitochondriales ou des éléments complexes macromoléculaires mitochondriaux, des causes acquises toxiques (MPTP, CO par exemple) ou médicamenteuses (chloramphénicol, AZT, acide acétylsalicylique par exemple). Parmi les
20 maladies mitochondriales, on peut citer le syndrome de KEARNS-SAYRE, le syndrome MERRF (Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers), le syndrome MELAS (Mitochondrial Encephalopathy, Myopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes) et la maladie de LEBER (I. NONAKA, Current Opinion in Neurology and Neurosurgery, 5, 622 (1992)).

25 L'action du riluzole dans le traitement des maladies mitochondriales est démontrée par son effet protecteur dans le test au cyanure. Il est en effet connu que le cyanure de potassium exerce un effet toxique par inhibition de la cytochrome oxidase aa3, l'enzyme terminale de la chaîne de transport d'électrons au niveau mitochondrial. Ainsi, chez la souris, le cyanure de
30 potassium (3 mg/kg IV) induit des contractions abdominales et des attaques toniques suivies de la mort dans les 20 secondes.

Des souris mâles adultes de 22-25 g (CD1 COBS, Charles River) stabulées à température et éclairage contrôlés reçoivent nourriture et eau de boisson ad libitum. A des groupes de 6 animaux on donne le véhicule ou le produit à étudier soit par voie intrapéritonéale 30 minutes avant
5 l'administration intraveineuse bolus d'une dose sub-léthale (3 mg/kg) de cyanure de potassium, soit par voie orale 1 heure avant l'administration du cyanure de potassium. Dans le groupe contrôle, toutes les souris meurent en 20 secondes alors que la DE50 du riluzole par voie IP est de 4,5 mg/kg et la DE50 du riluzole par voie per os est de 7,8 mg/kg.

10 L'action du riluzole dans le traitement des maladies mitochondriales est également démontrée par son effet sur le métabolisme mitochondrial du foie de rat.

L'activité métabolique de la mitochondrie est suivie par la consommation d'oxygène par polarographie à l'aide d'une électrode de Clark
15 (commercialisée par BIOBLOCK). Le dispositif expérimental est constitué d'une chambre en verre, thermostatée à 27°C par un système d'eau chaude. Un barreau magnétique placé dans la chambre permet l'agitation en continu du milieu réactionnel et facilite l'établissement d'un équilibre entre l'oxygène dissous et le gaz diffusant au travers de la membrane de l'électrode. Les
20 mitochondries, le substrat (succinate) et l'ADP (adénosine diphosphate) sont introduits dans la chambre réactionnelle par une petite ouverture située dans la partie supérieure de l'appareil. Une électrode de Clark est plongée dans le milieu réactionnel par un orifice hermétiquement fermé par un bouchon à vis. La consommation d'oxygène est tracée par un enregistreur connecté au
25 moniteur type YSI model 5300 BIOLOGICAL OXYGEN MONITOR (commercialisé par BIOBLOCK).

Les mitochondries de foie de rat mâle SD sont isolées à +4°C par centrifugation différentielle selon la méthode décrite par APPELMANS et coll., Biochem. J., 59, 438-445 (1955). Le culot de mitochondries est repris
30 par 1 à 3 ml de tampon saccharose 0,25 M et homogénéisé à la pipette.

La consommation d'oxygène par les mitochondries (1,2 mg de protéines par ml) est mesurée dans 5 ml de tampon de Chance composé de 12 mM de NaF, 26 mM de NaCl, 58 mM de KCl, 3 mM de substrat succinate

pour se trouver dans l'état métabolique 4 de Chance-Williams (ou état 4 d'oxydo-réduction des mitochondries, CHANCE B., Energy liked functions of mitochondria, New York, Acad. Press 1963)). La température de 27°C correspond à une concentration en oxygène d'environ 250 μ M. L'état
5 métabolique 3 de Chance-Williams est déclenché par addition de 0,25 mM d'adénosine diphosphate dans des préparations témoins contenant 250 nM de riluzole.

La consommation moyenne d'oxygène par les mitochondries hépatiques témoins est de 1,63 μ moles/min/mg de protéines (3 essais). En
10 présence de 250 nM de riluzole ajouté in vitro dans les mitochondries, la consommation d'oxygène est en moyenne égale à 2,12 μ moles/min/mg de protéines (3 essais). Ces résultats démontrent que le riluzole stimule la respiration mitochondriales d'environ 30 % par rapport aux contrôles.

Comme sels pharmaceutiquement acceptables peuvent être notam-
15 ment cités les sels d'addition avec les acides minéraux tels que chlorhydrate, sulfate, nitrate, phosphate ou organiques tels que acétate, propionate, succinate, oxalate, benzoate, fumarate, maléate, méthanesulfonate, iséthionate, théophilline-acétate, salicylate, phénolphtalinate, méthylène-bis- β -oxynaphtoate ou des dérivés de substitution de ces dérivés.

20 Les médicaments sont constitués par au moins le riluzole sous forme libre ou sous forme d'un sel d'addition avec un acide pharmaceutiquement acceptable, à l'état pur ou sous forme d'une composition dans laquelle il est associé à tout autre produit pharmaceutiquement compatible, pouvant être inerte ou physiologiquement actif. Les médicaments selon l'invention peuvent
25 être employés par voie orale, parentérale, rectale ou topique.

Comme compositions solides pour administration orale, peuvent être utilisés des comprimés, des pilules, des poudres (capsules de gélatine, cachets) ou des granulés. Dans ces compositions, le principe actif selon l'in-
30 vention est mélangé à un ou plusieurs diluants inertes, tels que amidon, cellulose, saccharose, lactose ou silice, sous courant d'argon. Ces compositions peuvent également comprendre des substances autres que les diluants, par exemple un ou plusieurs lubrifiants tels que le stéarate de magnésium ou le talc, un colorant, un enrobage (dragées) ou un vernis.

Comme compositions liquides pour administration orale, on peut utiliser des solutions, des suspensions, des émulsions, des sirops et des élixirs pharmaceutiquement acceptables contenant des diluants inertes tels que l'eau, l'éthanol, le glycérol, les huiles végétales ou l'huile de paraffine. Ces compositions peuvent comprendre des substances autres que les diluants, par exemple des produits mouillants, édulcorants, épaississants, aromatisants ou stabilisants.

Les compositions stériles pour administration parentérale, peuvent être de préférence des solutions aqueuses ou non aqueuses, des suspensions ou des émulsions. Comme solvant ou véhicule, on peut employer l'eau, le propylèneglycol, un polyéthylèneglycol, des huiles végétales, en particulier l'huile d'olive, des esters organiques injectables, par exemple l'oléate d'éthyle ou d'autres solvants organiques convenables. Ces compositions peuvent également contenir des adjuvants, en particulier des agents mouillants, isotonisants, émulsifiants, dispersants et stabilisants. La stérilisation peut se faire de plusieurs façons, par exemple par filtration aseptisante, en incorporant à la composition des agents stérilisants, par irradiation ou par chauffage. Elles peuvent également être préparées sous forme de compositions solides stériles qui peuvent être dissoutes au moment de l'emploi dans de l'eau stérile ou tout autre milieu stérile injectable.

Les compositions pour administration rectale sont les suppositoires ou les capsules rectales qui contiennent, outre le produit actif, des excipients tels que le beurre de cacao, des glycérides semisynthétiques ou des polyéthylèneglycols.

Les compositions pour administration topique peuvent être par exemple des crèmes, lotions, collutoires, gouttes nasales ou aérosols.

Les doses dépendent de l'effet recherché, de la durée du traitement et de la voie d'administration utilisée ; elles sont généralement comprises entre 50 et 400 mg par jour par voie orale pour un adulte avec des doses unitaires allant de 25 à 200 mg de substance active.

D'une façon générale, le médecin déterminera la posologie appropriée en fonction de l'âge, du poids et de tous les autres facteurs propres au sujet à traiter.

Les exemples suivants illustrent des médicaments selon l'invention :

5 Exemple A

On prépare, selon la technique habituelle, des comprimés dosés à 50 mg de produit actif ayant la composition suivante :

	- Amino-2 trifluorométhoxy-6 benzothiazole.....	50 mg
	- Mannitol.....	64 mg
10	- Cellulose microcristalline.....	50 mg
	- Polyvidone excipient.....	12 mg
	- Carboxyméthylamidon sodique.....	16 mg
	- Talc.....	4 mg
	- Stéarate de magnésium.....	2 mg
15	- Silice colloïdale anhydre.....	2 mg
	- Mélange de méthylhydroxypropylcellulose, polyéthylèneglycol 6000, dioxyde de titane (72-3,5-24,5) q.s.p. 1 comprimé pelliculé terminé à	245 mg

Exemple B

20 On prépare, selon la technique habituelle, des gélules dosées à 50 mg de produit actif ayant la composition suivante :

	- Amino-2 trifluorométhoxy-6 benzothiazole.....	50 mg
	- Cellulose.....	18 mg
	- Lactose.....	55 mg
25	- Silice colloïdale.....	1 mg
	- Carboxyméthylamidon sodique.....	10 mg
	- Talc.....	10 mg
	- Stéarate de magnésium.....	1 mg

Exemple C

On prépare une solution injectable contenant 10 mg de produit actif ayant la composition suivante :

	- Amino-2 trifluorométhoxy-6 benzothiazole.....	10 mg
	- Acide benzoïque.....	80 mg
5	- Alcool benzylique.....	0,06 cm ³
	- Benzoate de sodium.....	80 mg
	- Ethanol à 95 %.....	0,4 cm ³
	- Hydroxyde de sodium.....	24 mg
	- Propylène glycol.....	1,6 cm ³
10	- Eau.....q.s.p.	4 cm ³

L'invention concerne également le procédé de préparation de médicaments utiles dans le traitement des maladies mitochondriales consistant à mélanger le riluzole ou les sels pharmaceutiquement acceptables de ce composé avec un ou plusieurs diluants et/ou adjuvants compatibles et pharmaceutiquement acceptables.

REVENDICATIONS

- 1 - Application du riluzole ou les sels pharmaceutiquement acceptables de ce composé à la préparation de médicaments destinés au traitement des maladies mitochondriales.
- 5 2 - Application selon la revendication 1 pour le traitement du syndrome de KEARNS-SAYRE, le syndrome MERRF, le syndrome MELAS et la maladie de LEBER.
- 3 - Application selon l'une des revendications 1 et 2 pour obtenir un médicament comprenant 25 à 200 mg de riluzole.
- 10 4 - Procédé de préparation d'un médicament utile pour le traitement des maladies mitochondriales caractérisé en ce que l'on mélange le riluzole ou les sels pharmaceutiquement acceptables de ce composé avec un ou plusieurs diluants et/ou adjuvants compatibles et pharmaceutiquement acceptables.

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLERAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la rechercheFA 494393
FR 9400249

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	EP-A-0 374 041 (RHONE-POULENC SANTE) 20 Juin 1990	4
Y	* le document en entier * ---	1-3
D,X	EP-A-0 282 971 (WARNER-LAMBERT COMP.) 21 Septembre 1988	4
Y	* le document en entier * ---	1-3
X	EUR. NEUROPSYCHOPHARMACOL. (NETHERLANDS), 1993, VOL. 3, NO. 3, PAGE(S) 184-185, Meldrum B.S. 'Anti-excitatory amino acid approach in the treatment of neurodegenerative disorders'	4
Y	* le document en entier * ---	1-3
X	EUR. J. PHARMACOL., vol.250, no.3, 1993 pages 473 - 476 D. MARTIN ET AL. 'The neuroprotective agent riluzole inhibits release of glutamate and aspartate from slices of hippocampal area CA1'	4
Y	* le document en entier * ---	1-3
X	EP-A-0 558 861 (RHONE-POULENC RORER SA) 8 Septembre 1993	4
Y	* le document en entier * ---	1-3
D,A	CURRENT OPINION IN NEUROLOGY & NEUROSURGERY, vol.5, no.5, 1992 pages 622 - 632 I. NONAKA 'Mitochondrial diseases' * le document en entier * ---	1-3
-/--		
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.5)
		A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
12 Octobre 1994		Stierman, B
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

INSTITUT NATIONAL

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREN° d'enregistrement
nationalde la
PROPRIETE INDUSTRIELLEétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la rechercheFA 494393
FR 9400249

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendications concernées de la demande examinée	
A	NEUROLOGY, vol.43, no.12, 1993 pages 2484 - 2490 P.M. MATTHEWS 'Proton MR spectroscopic characterization of differences in regional brain metabolic abnormalities in mitochondrial encephalomyopathies' * le document en entier * -----	1-3	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. C.L.S.)

1

Date d'achèvement de la recherche

12 Octobre 1994

Examinateur

Stierman, B

CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
 Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un
 autre document de la même catégorie
 A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication
 ou arrière-plan technologique général
 O : divulgation non-écrite
 P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
 E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure
 à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date
 de dépôt ou qu'à une date postérieure.
 D : cité dans la demande
 L : cité pour d'autres raisons
 & : membre de la même famille, document correspondant